

EWING SARKOMU/PRİMİTİF NÖROEKTODERMAL TÜMÖR GRUBUNDA MIC-2 ANTİJEN POZİTİFLİĞİNİN TANIDAKİ YERİ

Uzm. Dr. Bilge BİLGİÇ, Uzm. Dr. Seza TETİKKURT, Prof. Dr. Misten DEMİRYONT

ÖZET: Ewing sarkomu (ES) ve Primitif nöroektodermal tümör (PNET) küçük yuvarlak hücreli tümörler grubunda yer almaktadır. % 95 oranında içerdikleri translokasyon ve diğer bazı özellikleri nedeniyle birlikte ele alınmaktadır. Tanı genellikle benzer tümörlerin ekarte edilmesiyle konmaktadır. Son yıllarda, bu iki tümörde % 95 oranında saptanan MIC-2 antijeni tanıda oldukça yardımcı olmaya başlamıştır. Bu çalışmada 14'ü ES, 6'sı PNET olarak değerlendirilen, 15'i erkek 20 olguda % 95 oranında MIC-2 antijeni pozitif bulunmuştur. MIC-2'nin tanıdaki yeri, ayırıcı tanı problemleri ile sunulmaktadır.

ANAHTAR KELİMELEER: Ewing sarkomu, Primitif nöroektodermal tümör, MIC-2.

SUMMARY: Diagnostic value of the MIC-2 antigen in Ewing's sarcoma and the primitive neuroectodermal tumor: ES and PNET belong to the group of small round cell tumors. % 95 of the cases share a translocation among other similar morphological features, so these two entities are closely related. The diagnosis is usually a diagnosis of exclusion. Recently ES/PNET have been shown to express MIC-2 antigen 95% of the cases. In this study we present 14 ES and 6 PNET. 95% of these showed MIC-2 positivity. The diagnostic utility of the MIC-2 antigen and the differential diagnosis were discussed.

KEY WORDS: Ewing's sarcoma, primitive neuroectodermal tumor, MIC-2.

GİRİŞ

Ewing sarkomu (ES) ve Primitif Nöroektodermal Tümör (PNET), küçük yuvarlak hücreli tümörler grubunda yer alan birçok ortak özelliği olan tümörlerdir. Tedavi ve seyir açısından gösterdikleri farklılıklar nedeniyle bu tümörlerin, diğer yuvarlak hücreli tümörlerden, -Nöroblastom, embriyonel ve alveoler rabdomyosarkom, küçük hücreli osteosarkom, lenfoma-ayırımı gereklidir(1,2,3,4). İmmünohistokimyasal ve elektron mikroskopik bulgular, genellikle tanıya götürmektedir(1,2,3,4,5,6,7,8,9). Desmin, LCA, NSE, Leu7 ve S-100 protein gibi antijenlerin aranmasına dayalı bir panel uygulanmalıdır. Ancak nöral belirleyicilerin, ES ve PNET grubunda oldukça heterojen sonuçlar vermesi ve bunların nöral dokuya spesifik olmaması nedeniyle, ES veya PNET tanısı genellikle diğer tümörlerin ekarte edilmesi ile konmaktadır(21,22,24).

MIC2 geni X ve Y kromozomlarında yer alan psödotomozomal bir gen olup, bunun ürünü olan yüzey antijenlerine karşı antikorlar 1980'li yılların başlarında geliştirilmiş ve öncelikle kortikal timositlerde saptanmıştır. 1990'lı yılların başından itibaren aynı antijenin farklı bir epitopu ile reaksiyon veren HBA71, ES ve PNET grubunda yüksek oranda saptanmış, % 95'lere varan pozitivite oranı bildirilmiştir. Bu çalışmada küçük bir kontrol grubunun da eşliğinde, 20 olgudan oluşan, ES/PNET grubumuzda MIC2 gen proteini varlığı ve tanıdaki yeri tartışılmıştır.

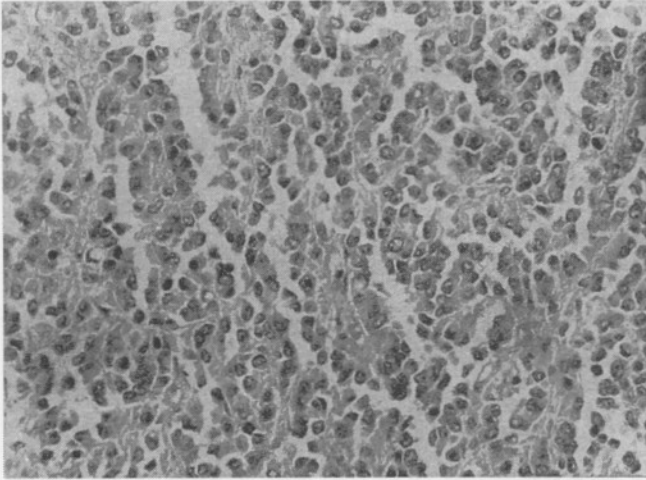
MATERYAL-METOD

İstanbul Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'na gönderilen, yaşları 1-41 arasında değişen 15'i erkek 20 olguya ait biopsi materyeli değerlendirilmiştir. Hematoksilen Eozin dışında Periodic Acid-Schiff (PAS), Gomori'nin retikülün boyası

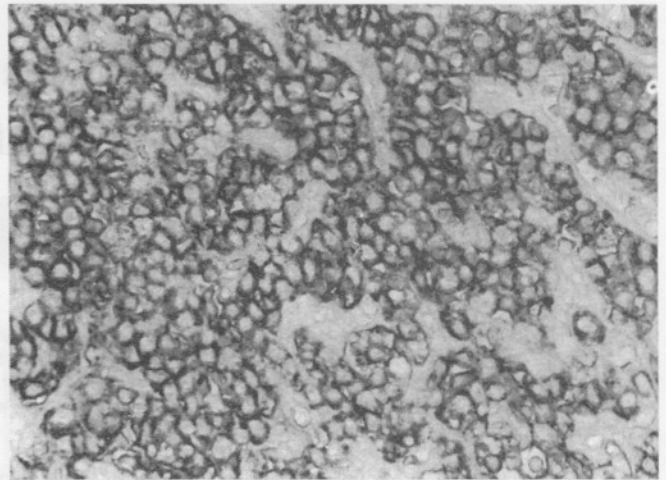
uygulanmıştır. İmmünohistokimyasal (İH) çalışma için parafin kesitler suya getirildikten sonra mikrodalga (sitrat buffer) ışınlama yapılmıştır. İH yöntemde biyotinli sekonder antikor, HRP-streptavidin molekülü ve AEC kromojen sistemi kullanıldı. (Signet Dedham cat 2246 ve cat 1026). Bütün işlemler oda sıcaklığında uygulandı. Test preparatlarında primer antikor olarak tümü monoklonal mouse olmak üzere antiMIC-2 gen proteini (Dako, 1/100, 30 dak). anti-NSE (Dako, 1/200, 30 dak.), anti-Desmin (Dako, 1/50, 30 dak.), anti S-100 protein (Biogenex, 1/100, 30 dak.), Kromogranin A (Dako, kullanıma hazır, 30 dak.), LCA (Dako, 1/100, 30 dak.) kullanıldı. Negatif kontrol preparatlarında primer antikor yerine nonimmün mouse serumu kullanıldı. Negatif kontrol olarak alınan olgular 2 nöroblastom, 2 rabdomyosarkom ve 2 lenfoblastik lenfomadan oluşmaktadır. Çalışmada kullanılan dokulardan bir kısmı %10'luk nitrik asitte dekalsifiye edilmiştir.

BULGULAR

15'i erkek, 20 olgunun yaşları 1-41 arasında değişmektedir. 6'sı PNET, 14'ü ES olarak tanı almıştır. Tüm olguların 8'i, PNET olgularının 1'i kemik yerleşimlidir. Yaş ortalaması ES grubunda 17, PNET grubunda 24'tür. 18 olguda anti MIC-2 gen proteini ile %50-95 arasında değişen, tümünde zeminden kolaylıkla ayırt edilebilecek şiddette, membranöz yerleşimli boyanma saptanmıştır. Bunların 4'ünde, sitoplazmik boyanma da eşlik etmektedir. Bu olguda az sayıda hücrede (%20) boyanma görülürken, 1 PNET olgusunda boyanma saptanmamıştır. Olguların bir kısmında bulunan nekroz ve ezilme artefaktı içinde de, benzer şekilde boyanma dikkati çekmiştir. Olguların birinde dekalsifiye doku kullanılmış bunda da boyanmanın diğer dokulardan belirgin bir fark göstermediği gözlenmiştir. Ayrıca bir olguya ait materyal hem % 70'lik ethanol, hem de formalinde fikse edilmiş, ilkinde boyanmanın daha zayıf olduğu dikkati çekmiştir. Kontrol grubu olarak seçilen 2 nöroblastom ve 2 rabdomyosarkom olgusu negatif kalır-



Resim 1. Bir PNET olgusunda yer yer belirginleşen rozet yapıları (H.Ex10,prot no:472/95).



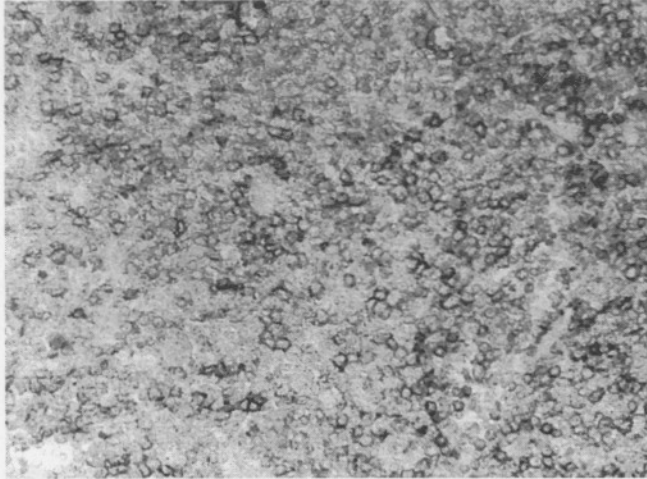
Resim 2. PNET'de yaygın MIC-2 pozitifliği. (MIC-2x500, prot no:9745/97).

ken, 1 lenfoblastik lenfomada soluk ve seyrek sitoplazmik, diğer lenfoblastik lenfomada % 70 oranında membranöz boyanma görülmüştür.

TARTIŞMA

Çocukluk çağıının küçük yuvarlak hücreli tümörleri, morfolojik olarak primitif-embriyonel görünüşlü hücrelerden oluşmaktadır(1). Bu grup içinde Ewing Sarkomu (ES), Primitif Nöroektodermal Tümör (PNET) indifferansiyel nöroblastom alveoler rabdomyosarkom, lenfoblastik lenfoma ve küçük hücreli osteosarkom yer almaktadır(1,2,3,4). Genellikle yardımcı yöntemler olmaksızın kesin tanıya gitmek mümkün değildir; oysa tedavi ve seyrir açısından gösterdikleri farklar nedeni ile bu tümörlerde kesin tanı şarttır. Bu yönde yapılabilecek çalışmalar immünohistokimyasal, elektron mikroskopik, sitogenetik ve moleküler genetik analiz olabilir(1,2,3,4,5,6,7,8,9). PNET ve ES, benzer morfolojik ve immünohistokimyasal, genetik özellikler ile çoğu kez birlikte ele alınır ve bunların aynı spektrum içinde farklı iki uçağa yer alan tümörler olduğu düşünülmektedir (6,10,12, 13,14). ES daha ziyade ekstremiteler ve pelvis, PNET torakopulmoner, batin pelvis yerleşimlidir. ES hem kemik hem de yumuşak doku kaynaklı olabilirken PNET olgularının çoğu öncelikle yumuşak doku kitlesi ile ortaya çıkmaktadır (7). PNET grubunda ortalama yaş biraz daha ileri olup her ikisinde de erkek hasta sayısı fazladır(10). Olgularımızın 15'i erkektir. Yaşları 1-41 arasında değişmektedir. PNET grubunda ortalama yaş 24, diğer grupta 18'dir. Olguların 14'ü ES tanısı almıştır. PNET olgularının biri, ES'de ise 7 olgu primer kemik yerleşimlidir. Prognoza yönelik çalışmalar, PNET'in daha agresif seyirli olduğu yönündedir(15,16). Prognozun farklı olmadığını savunan çalışmalar da vardır ve prognozu etkileyen faktörlerin ES de tanımlanan "filigree pattern"ın varlığı ve proksimal ekstremiteler-pelvis yerleşimi olduğu ileri sürülmektedir(17,18,19). Schmidt(15), tamamen prognozu esas

olarak yaptığı sınıflamada rozet yapımı ve nöral belirleyicilerin en az ikisini gösteren olguların daha kötü seyir gösterdiğini saptamış ve buradan yola çıkarak PNET tanı kriterlerini ortaya koymuştur. Nöral markerların oldukça heterojen sonuçlar verdiği olgular ve NSE'nin spesifitesinin düşüklüğü gözönüne alındığında, pratikte rozet yapısının (Resim 1) daha çok kullanılan bir kriter olabileceği düşünülmektedir (2,3,21,22, 23,24,25). % 10'u geçmedikçe rozet yapısının ES tanısına da aykırı düşmeyeceği belirtilmektedir(14). Çalışmamızda, ES/PNET ayrımında belirgin rozet yapımı ana kriter olarak ele alınmıştır. Olguların bir kısmında buna ek olarak NSE ve kromogranin pozitivitesi saptanmıştır. Küçük hücreli tümörlerden rabdomyosarkom ve lenfoma desmin ve LCA ile ekarte edilmeye çalışılmıştır. ES'de NSE ile oldukça heterojen sonuçlar elde edilmiştir. Gerek kaynaklardan, gerekse kişisel deneyimlerimizden elde edilen sonuçlarla, özellikle ES olgularında tanı diğer tümörlerin ekarte edilmesi ile konmaktadır(7). Bu da, ES/PNET'e özgü oldukça yüksek oranlarda pozitifliği olan bir antijenin varlığına ne kadar gereksinim olduğunu göstermektedir. Son yıllarda MIC-2 gen ürünü bir glikoprotein, bu grup tümörlerde % 95 oranında pozitif olması bu yönde oldukça umut verici olmuştur(3,11). Üstelik bu antijenin nöroblastomda tamamen negatif, rabdomyosarkomda ise bir iki zayıf pozitif olgu dışında negatif olması ayırıcı tanı için çok yardımcı olacağını göstermektedir(5,9). ancak burada sorun yaratabilecek bir nokta, MIC-2 gen ürünü bu proteinin lenfoblastik lenfomalarda da saptanabildiğidir(28,29). LCA ile bu sorun kısmen çözülsün de LCA negatif lenfomaların varlığı akıldan çıkarılmamalıdır. Olgularımızın % 95'inde membranöz yerleşimli ve kuvvetli olarak MIC-2 pozitif bulunmuştur (Resim 2). Yine kaynaklara uyumlu olarak az sayıda olguda (4 olgu) sitoplazmik boyanma saptanmıştır. Kontrol grubunda yer alan rabdomyosarkom ve nöroblastom olgularında MIC-2 negatiftir. Bir lenfoblastik lenfomada %70 oranında pozitifite saptanmış, (Resim 3) diğerinde ise tek tük hücrede soluk boyanma görülmüştür.



Resim 3. Lenfoblastik lenfomada MIC-2 pozitifliği (MIC-2x310, prot no:18584/96).

Sonuç olarak; MIC-2 gen proteini ES/PNET olgularımızın % 95'inde pozitiftir. Membranöz yerleşim tipiktir. Dekalsifiye olmuş olgu sayımız az olmakla birlikte bu antijenin dekalsifikasyondan etkilenmediği görülmektedir. Bugüne kadar, bazen vimentin ve NSE veya bazı nöral markerların pozitifliği dışında genellikle diğer antijenlerin negatif olmasıyla sonuca gidilmekteyken, artık ES/PNET olgularında duyarlılığı yüksek bir antijen tanıda yol gösterici olacaktır.

Teşekkür: Laboratuvar aşamasında emeği geçen Selime Filiz'e, immünohistokimyasal yöntem için uzm. Bio. Afife Kaya'ya, fotoğraflar için Ömral Yılmaz'a ve yazım aşaması için Nurten Özer'e teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

- Gerald WL. Small round cell tumors: Overview and recent advances in immunohistochemistry. Ladanyi Marc: Molecular differential diagnosis of pediatric sarcomas. In: Surgical Pathology of neoplastic diseases 12. annual course Rome, Italy May 5-9, 1997,165-181.
- Pappo A. S., Douglass EC, Meyer WH Marina N, Parham D: Use of HBA 71 and anti Beta 2 microglobulin to distinguish peripheral neuroepithelioma from neuroblastoma Hum Pathol 1995. 24:880-885.
- Fellinger E, Chesa P.G., Glasser D.B, Huvoş A.G, Rettig W. J: Comparison of cell surface antigen HBA 71 (p30-32 MIC2), NSE and Vimentin in the immunohistochemical analysis of Ewing's sarcoma of bone. Am J Surg Pathol 1992,16(8):746-755
- Perlman E.J., Dickman D.S. Askin F.B, Grier H.E, Miser J.S. Link M.P. Ewing's sarcoma-Routine Diagnostic utilization of MIC 2 analysis. Hum Pathol 1994,25:304-307.
- Ambros I.M, Ambros P.F, Strehl S, Kovar H, Gadner H, Salzer Kuntschik M. MIC 2 is a specific marker for Ewing's sarcoma and peripheral primitive ve neuroectodermal tumors Cancer 1991, 67: 1886-1893.
- Llombard-Bosch A, Lopes-Terrado D. Soft tissue tumors: From morphology to molecular biology. In: molecular diagnostic aspects of solid tumors-long course. XXI. International Congress of the Int. Academy of Pathology Budapest ,22 October 1996. 48-58.
- Tsokos M, Small round cell tumors of childhood In Electron microscopy in diagnosis of controversial issues in tumor pathology XIX. Int.Congress of the Int Academy of Pathology short course-Madrid 18-23 October 1992. 69-70.
- Winters JL, O'Connor JD. Immunohistology cytogenetics and molecular studies of small round cell tumors of childhood A review Ann Clin Lab Sci 1995,25: 1,66-78.
- Taylor C, Patel K, Jones T, Kiely F De Stavola BL. Sheer D Diagnosis of Ewing's sarcoma and peripheral neuroectodermal tumors based on the detection of t(11,22) using FISH. BJ Can. 1993,67: 128-133.
- Unni KK. Ewing's tumor In: Dahlin's Bone Tumors, 5th Lippincott-Raven Philadelphia, New York 1996. 249-261.
- Retting WJ, Chesa PG, Huvoş G. Editorial. Ewing's sarcoma: New approaches to histogenesis and molecular plasticity Lab Invest 1992,66(2) 133-136.
- Dehner LP. Neuroepithelioma (Primitive Neuroectodermal Tumor) and Ewing's sarcoma. Arch Pathol Lab Med. 1994, 118:606-607.
- Pearson J.M, Harris M, Eyden BD, Banerjee S.S Divergent differentiation in small round-cell tumors of the soft tissues with neural features an analysis of 10 cases. Histopathol 1993, 23,1-9.
- Devaney K, Abbondanzo S, Shekitke K, Wolos R, Sweet D.E MIC 2 Detection in Tumors of Bone and Adjacent soft tissues. Clin Orthopaed Related Res. 1995,310: 176-187.
- Schmidt D, Herrmann C, Jungen H, Harms D, Malignant peripheral neuroectodermal tumor and its necessary distinction from Ewing's sarcoma. Cancer 1991, 68:2251-2259.
- Hartman KR, Triche T.J, Kinsella TJ, Miser JS. Prognostic value of histopathology in Ewing's sarcoma Cancer 67:163-171,1991.
- Terrier Ph., Henry Amor M, Triche TJ, Harowitz ME, Terrier Lacombe MJ, Miser J.S, Kinsella TJ, Contesso G, Llombart-Bosch Is neuroectodermal differentiation of Ewing's sarcoma of bone associated with an unfavourable prognosis? Eur J Cancer 1995,31(A) 307-314.
- Wilkins RM, Douglass MS, Pritchard J Burgert O, Unni KK Ewing's sarcoma of bone. Cancer 1986, 58:2551-2555.
- Kissane JM, Askin FB, Foulkes M, Stratton LB, Shirley SF Ewing's sarcoma of bone. Hum Pathol 1983, 14:773-779.
- Navarro S, Cavazzana A, Llombart Bosch A, Triche TJ, Comparison of Ewing's sarcoma of bone and peripheral neuroepithelioma. Arch Pathol Lab Med., 1994,118:608-615.
- Pinto A, Grant LH, Hayes F, Schall MJ, Parham DM. Immunohistochemical expression of NSE and Leu 7 in Ewing's sarcoma of bone Cancer 1989. 64: 1266-1273.
- Usgome S, Shimada T, Tahaki K, Nikaido T, Takakuwa T, Ishikawa E, Spjut H. Immunocytochemical and ultrastructural studies of the histogenesis of Ewing's sarcoma and putatively related tumors Cancer 1989, 64:52-62.
- Jurgers H, Bier V, Harms D, Beck J, Brandeis W, Etspüler G, Gadner H, Schmidt D, Treuner J, Winkler K, Gobel U. Malignant peripheral neuroectodermal tumors Cancer 1988, 61:349-357.
- Llombart Bosch A, Ternier Lacombe J, Peydro-Olaya A, Contesso G, Peripheral neuroectodermal sarcoma of soft tissue. Hum Pathol 1989,20:273-280,.
- Parham D. Immunohistochemistry of childhood sarcomas. Old and new markers Mod. Pathol 1993, 6(2) 133-138.
- Stevenson A.J, Chatta J, Bertoni F, Miettinen M: CD 99 (p30/32 MIC 2) Neuroectodermal/Ewing's sarcoma antigen as an Immunohistochemical marker Appl Immunohistochem 1994, 2(4):231-240 .
- Riopel M, Dickman P.S, Link M.P, Perlman E.J. MIC 2 Analysis in pediatric lymphomas and leukemias Hum Pathol 1994, 25:396-299.